

Клеточные модели хромосомных транслокаций с участием гена *KMT2A*

Научный руководитель – Рубцов Михаил Александрович

Николаев Николай Андреевич

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: nnikolaev@bb.msu.ru

Хромосомные перестройки с участием гена *KMT2A* играют важную роль в возникновении различных типов острого лейкоза [2]. Они обнаруживаются у 80% больных острым лимфобластоидным лейкозом в возрасте до года и, предположительно, сами по себе являются достаточными для возникновения заболевания *in utero* [1]. *KMT2A* — гистоновая лизин-метилтрансфераза, активирующая транскрипцию генов, отвечающих за раннее развитие и гемопоэз. На прогноз и предпочтительный путь лечения лейкоза влияют как точка разрыва в *KMT2A*, так и его ген-партнёр по транслокации. Для изучения механизмов развития заболевания при перестройках *KMT2A* необходима серия клеточных моделей с этими перестройками в близком к нативному геномном окружении.

Поскольку такие моноклональные линии планируется создавать из первичных клеток с ограниченной возможностью деления, а транслокации образуются лишь в некоторых из небольшого процента трансфицированных клеток, мы ищем подход, позволяющий отбирать клетки с перестройкой наиболее эффективно.

Один из возможных путей состоит в котрансфекции клеток двумя плазмидами: первая кодирует Cas9, гидовые РНК к желаемым точкам разрыва и красный флуоресцентный белок, а вторая, трансферная, содержит плечи гомологии к участкам генов-партнёров и кассету из селективных маркеров, фланкированную LoxP-сайтами. После рекомбинации в процессе репарации разрывов последняя оказывается между слившимися фрагментами хромосом. Это позволяет отбирать успешно трансфицированные клетки, а затем - клетки с транслокацией, после чего удалять кассету Cre-рекомбиназой.

Ранее уже были получены трансферные плазмиды, содержащие в кассете ген GFP под CMV-промотором. На их основе мы получили плазмиды, в которых промотор заменён на сплайс-акцептор и T2A-последовательность. В результате GFP будет экспрессироваться только после интеграции в *KMT2A*, в единой мРНК с его N-концом, и отщепляться от него при трансляции благодаря 2A-пептиду. Предполагается, что это повысит эффективность отбора, поскольку не будет требоваться дожидаться потери культурой транзиторной экспрессии GFP.

Мы трансфицировали полученными плазмидами лимфобластоидные клетки LCL, после чего сортировали последние сначала по красному, а через 4 недели - по зелёному флуоресцентному белку. Наличие в полученной культуре целевой транслокации с кассетой между фрагментами хромосом было подтверждено методом ПЦР. Данный подход будет использован для получения панели клеточных линий с различными транслокациями с участием гена *KMT2A*.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 19-75-10056).

Источники и литература

- 1) Andersson, A., Ma, J., Wang, J. et al. The landscape of somatic mutations in infant MLL-rearranged acute lymphoblastic leukemias. *Nat Genet* 2015; 47:330–337.

- 2) Marschalek R. MLL (myeloid/lymphoid or mixed lineage leukemia). Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. 2003; 7(1):16-19.

Иллюстрации

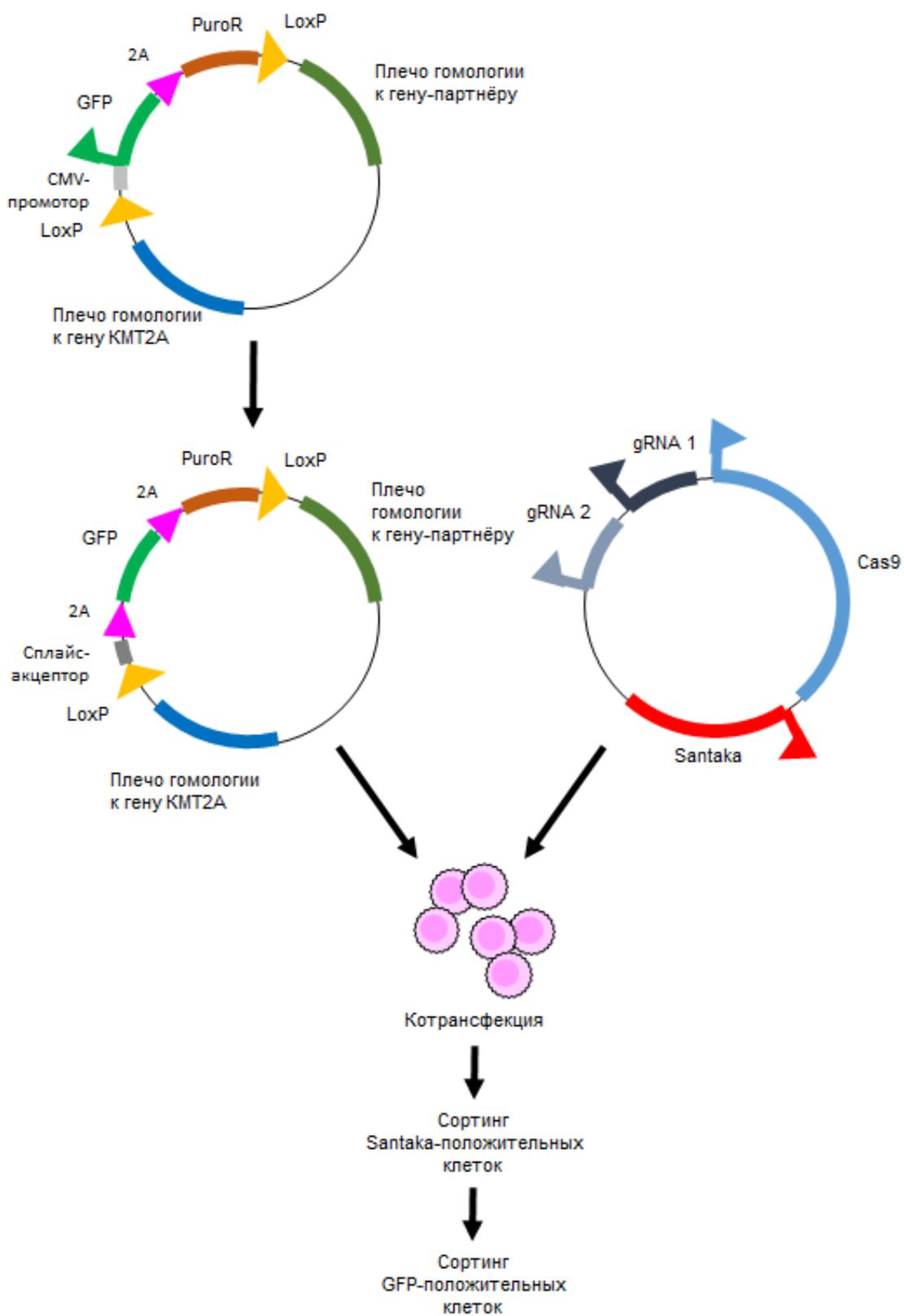


Рис. 1. Схема выполненной работы

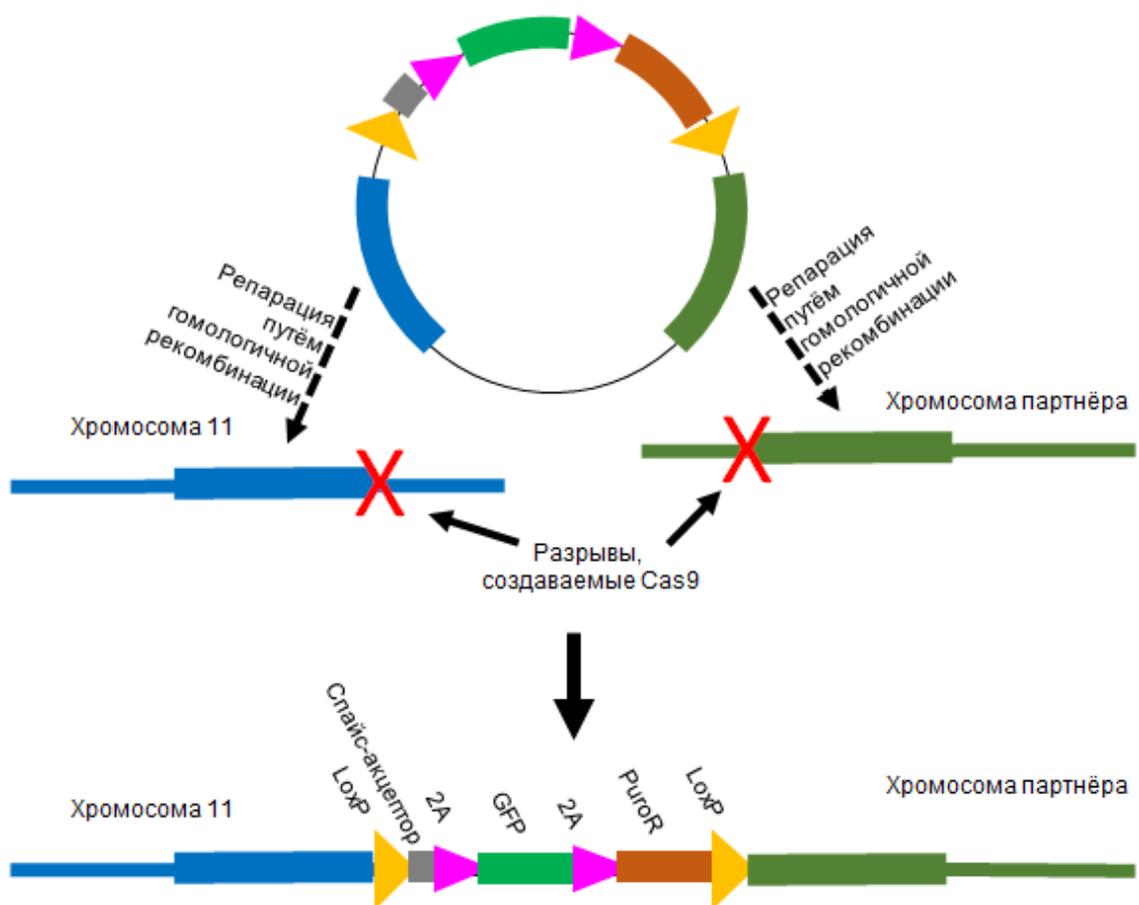


Рис. 2. Схема получения транслокации с кассетой